

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭62-195335

⑬ Int.Cl.<sup>4</sup>  
A 61 K 37/02識別記号  
ACA庁内整理番号  
8615-4C

⑭ 公開 昭和62年(1987)8月28日

審査請求 未請求 発明の数 2 (全8頁)

⑮ 発明の名称 出血障害の治療のための第Ⅶa因子を含有する治療組成物

⑯ 特 願 昭61-278887

⑰ 出 願 昭61(1986)11月25日

優先権主張 ⑱ 1985年11月26日 ⑲ デンマーク(DK) ⑳ 5446/85  
㉑ 1986年9月26日 ㉒ デンマーク(DK) ㉓ 4592/86⑳ 発 明 者 ウラ カリン エリサ スウェーデン国、エスエー21620 マルメー、ボーゲー  
ベス ヘドネル ングスベージェン 29  
㉔ 出 願 人 ノボ インダストリ デンマーク国、デーコー2880 バグスバエルト、ノボ  
アクティーゼルスカブ アレ(番地なし)  
㉕ 代 理 人 弁理士 青 木 朗 外4名

明細書の浄書(内容に変更なし)

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

出血障害の治療のための第Ⅶa因子を含有  
する治療組成物

## 2. 特許請求の範囲

1. 有効な止血量の第Ⅶa因子を含んでなるこ  
とを特徴とする凝固因子欠陥或いは凝固因子阻害  
剤により引起されたものではない出血障害に悩む  
患者の治療用組成物。2. 血小板減少或いは血小板障害に悩む患者の  
治療用の特許請求の範囲第1項記載の組成物。3. ヴェン・ヴィレブランド病に悩む患者の治  
療用の特許請求の範囲第1項記載の組成物。4. 組織損傷に伴う出血に悩む患者の治療用の  
特許請求の範囲第1項記載の組成物。5. 精製された第Ⅶa因子を少なくとも25  
μg/mlの濃度で含んでなる特許請求の範囲第1項  
記載の組成物。6. 該止血量が約100単位～1000単位の  
第Ⅶa因子/kg体重を含んでなる特許請求の範囲

第1項記載の組成物。

7. 該止血量が約100単位～500単位の第  
Ⅶa因子/kg体重を含んでなる特許請求の範囲第  
1項記載の組成物。8. 該組成物が更に第Ⅶ因子を含む特許請求の  
範囲第1項記載の組成物。9. 生理学的に許容可能な担体或いは希釈剤を  
含む特許請求の範囲第1項記載の組成物。10. アジュバントを含む特許請求の範囲第1項  
記載の組成物。11. 該アジュバントがカルシウムである特許請  
求の範囲第10項記載の組成物。12. 該アジュバントがアルブミン、非-還元性  
糖類、ポリアルコール類、アミノ酸類、多糖類及  
び酸化防止剤よりなる群から選ばれる特許請求の  
範囲第10項記載の組成物。13. カルシウムとアルブミン、非-還元性糖類、  
ポリアルコール類、アミノ酸類、多糖類及び酸化  
防止剤よりなる群から選ばれた1以上のアジュバ  
ントの組合わせを含む特許請求の範囲第1項記載

の組成物。

14. 有効な止血量にて第Ⅶa因子を含んでなる凝固因子欠陥或いは凝固因子阻害剤により引起されたものではない出血障害に悩む患者の治療用組成物の製造における第Ⅶa因子の使用。

### 3. 発明の詳細な説明

#### 〔産業上の利用分野〕

本発明は、血小板障害例えば血小板減少、ヴェン・グイレブランド病及び典型的には激しい組織損傷に伴って存在するその他の障害などの出血障害に悩む患者の治療のための第Ⅶa因子の使用に一般的に向けられたものである。本発明に従えば特別の基本的止血障害が診断されなかった症例においてさえも胃腸出血及び鼻・口腔出血にも又第Ⅶa因子が使用される。

#### 〔従来技術および発明が解決しようとする問題点〕

調節されない且つ過度の出血は、外科手術及び又各種形態の組織損傷の両者に関連する主たる問題である。出血障害は凝固因子欠陥或いは凝固因

付加して示される(例Ⅶa)。

血液凝固を促進することのできる二つの別々の系がある。これらの系は固有及び外因性凝固経路と称される。固有経路においては血漿に存在する因子のみが利用される。固有経路における中間事象は、第Ⅻa因子及びカルシウムイオンにより触媒される反応である第Ⅻ因子の第Ⅻa因子への活性化である。第Ⅻa因子は次いで第Ⅴa因子、リン脂質及びカルシウムイオンの存在下において第Ⅹ因子の第Ⅹa因子への活性化に参加する。外因性経路は血漿因子並びに組織抽出物に存在する成分を含む。上記プロ酵素の一つである第Ⅶ因子は組織因子及びカルシウムイオンの存在下に第Ⅹ因子を第Ⅹa因子に転換(そのⅦa因子への活性化時点において)することにより血液凝固の外因性経路に参加する。第Ⅹa因子は次いで第Ⅴa因子、カルシウムイオン及びリン脂質の存在下にプロトロンビンをつロンビンに転換する。第Ⅹ因子の第Ⅹa因子への活性化は固有及び外因性経路の両者に共通の事象であるので、第Ⅶa因子は第Ⅶ因子

子阻害剤により引起されることがある(血友病A及びB)。しかしながら、出血障害は血友病A或いはBに悩まない患者、例えば、ヴェン・グイレブランド病に悩む患者にも見られる。ヴェン・グイレブランド病を有する患者は彼等がヴェン・グイレブランド因子蛋白質に欠けるか或いはそれが異常であるために一次的止血欠陥を有する。止血障害は又、正常に機能する血液凝固カスケードを有する患者にも見られ、それは欠陥のある血小板機能、血小板減少、或いは知られていない理由によっても起こされるものである。

血餅形成は基本的には酵素トロンビンにより触媒される可溶性血漿蛋白質フィブリノーゲンの不溶性フィブリンへの転換により誘発されるものである。凝固カスケードに参加する血液成分はプロ酵素即ちチモゲンであり、これらはそれ自体活性化された凝固因子である不活剤の作用により蛋白質分解酵素に転換される酵素的に不活性な蛋白質である。その様な変換を受けた凝固因子は一般的に「活性化因子」と称され、下付文字「a」を

の欠陥或いは阻害剤を有する患者の治療に用いられ(米国特許4,382,083号明細書)、及び第Ⅶa因子はⅦ:Cに対する抗体を有する血友病A患者における凝固カスケードの初期相をバイパスすることができることが示されている。〔ヘドナー及びキシル(Hedner and Kisile)、ジャーナル・オブ・クリニカル・インベスティゲーション(J. Clin. Invest.)、71:1836-1841、1983〕。

「減少した数の循環血小板」と規定される血小板減少は多数の因子が低血小板数に寄与する種々の病気群及び複雑な状況に伴う共通の臨床的問題である。低下した血小板数の結果、それ自体例えば鼻・口腔領域或いは胃腸経路からの粘膜出血並びに傷、潰瘍及び注射部位からの浸出しにおいて示される増大した出血傾向を生ずる。血小板減少出血は広範であり得、外科手術に際し、及び又手術後の両者において深刻な問題を作り出す。抜歯などの小さな外科手術でさえも深刻な出血を引起することがある。更に著しく低い血小板数(<10

$\times 10^9/\ell$ )においては、自発的頭蓋内出血が起こることがある。

減少した数の循環血小板は(1)産生欠陥、(2)異常分布、(3)稀釈的欠損(多量の輸血)、或いは(4)異常破壊の結果である。

骨髓における血小板の産生欠陥は放射線照射、細胞増殖抑制剤、ある種の薬品などの毒性因子、腫瘍浸潤(転移癌及び白血病)或いは未知起源の退行的過程(しばしば貧血或いはその他の血管障害を伴う)の影響などを含む各種状態の結果である。血小板の異常分布は血液学的障害(白血病、骨髓腫、リンパ腫)、肝臓病、脾臓などを伴ってみられる。これらの状況においては、血小板は拡大された脾臓或いは肝臓に捕捉され、従って循環血液から逃れることとなる。新鮮な血小板の特別の変化なしの多量の輸血は循環血液中の血小板の濃度低下を生じ、その様な状況において生ずる血小板減少出血の原因と考えられる。血小板の異常破壊は、(1)器管移植片或いは外傷組織における増大した消費、或いは(2)薬品-誘発血小板減少、特

発性血小板減少性紫斑病(ITP)、自己免疫病、血液学的障害(白血病、リンパ腫)などの結果である。

血小板は引続き凝固カスケードの活性化及びフィブリンの形成により固体化される一次的止血栓子の形成を誘発することによる一次的止血に対して重要である。これらの血小板は通常第V因子、第VIII因子及びフィブリンノーゲン並びに局所止血の開始に必要なリン脂質を含む凝固因子を与える。

血小板減少に悩む患者においては、正常な凝固カスケードは凝固カスケードの一次的段階の開始の欠陥により機能しなくなる。その様な患者の治療は実質的困難に遭遇する。血小板減少を有する患者は現在最も普通には給血者の血液から調製される血小板濃縮物の投与により治療されている。その様な濃縮物は5~6人の給血者から集められた血小板より構成される。血小板輸血を繰返し受取るものの殆んどは血小板抗原に対する抗体を発生し、その結果、更に血小板輸血の効果が貧弱となるか或いは全くなくなる。その様な患者に提供

されるべき治療は現在ない。

血小板機能の欠陥は先天的障害(グランツマン血小板無力症、その他の血小板無力症の先天的形態、血小板凝集欠陥)としても、又数多くの病気例えば白血病、異常蛋白血症(例、骨髓腫)、自己免疫病(リウマチ性関節炎、全身性エリトマトーデスなど)及び尿毒症などに対する合併症としても共にむしろ共通である。血小板機能欠陥を有する患者は殆んど上記血小板減少について述べた粘膜炎タイプの出血を発生する。外科手術に伴いこれらの患者は又過度の出血を避けるための治療も必要とする。現在抗凝繊維溶解的治療(トラネキサミン酸、ε-アミノカプロン酸)が単独で或いはパンプレッシン類縁体であるデスモプレッシン(DDVAP)の投与と共に用いられている。しかしながら、デスモプレッシンも又血管収縮を生ずる心臓血管の効果をも有する。これは薬品を何等かの心臓血管問題を有する疑いのある患者に使用することを不適当にする。

ヴォン・ギレブランド病を有する患者はヴォン・ギレブランド因子蛋白質に欠けるか或いはそれが異常であるために一次的止血欠陥を有する。

ヴォン・ギレブランド病を有する患者は、その結果鼻・口腔領域及び胃腸経路の両者からの粘膜炎出血を有する。ヴォン・ギレブランド病の最も厳しい形態を有するものは合併出血にも悩む。ヴォン・ギレブランド病に悩む患者においては初期止血段階をバイパスすることにより止血を誘発することできる因子が有益である。

その結果、血小板機能欠陥を有する患者並びに血小板減少及びヴォン・ギレブランド病に悩む患者を治療する改良された方法であって、従来の治療に特徴的であった望ましくない副作用及び難点のない方法が必要とされている。本発明はこの需要を満たし、更に特別の止血障害が診断されていない状況においてさえも、胃腸及び鼻・口腔出血を治療するための方法を含むその他の関連した利点を提供するものである。

(以下余白)

〔問題点を解決するための手段および発明の効果〕

簡単に述べると、本発明は凝固因子欠陥或いは凝固因子阻害剤により引起されたものでない出血障害に悩む患者を治療するための方法並びにそれを使用するための新規組成物を開示するものである。この方法は一般的に患者に有効な止血量の第Ⅶa因子を含んでなる組成物を投与することを特徴とするものである。この組成物は又生理学的に許容可能な担体或いは希釈剤或いはアジュバントを含んでもよい。適当なアジュバントとしてはアルブミン、カルシウム、非還元性糖類、ポリアルコール類、多糖類及び酸化防止剤などが挙げられる。

ここに示される方法は特に血小板減少、ヴェン・ヴィレブラント病並びにその他の血小板障害に悩む患者の治療に有効である。加えて、この方法は胃腸出血或いは鼻-口腔出血に悩む患者にも使用される。

本発明の好ましい実施態様においては、この組成物は静脈内にkg体重当り約100単位～1000

法を提供するものである。この方法の範囲内において、有効量の第Ⅶa因子を含有する活性化された止血剤を含む組成物が患者に投与される。

この組成物は活性化されていない第Ⅶ因子及びその他の活性化されていない血液凝固因子例えば第Ⅶa因子の活性を高める第Ⅸ因子を含んでもよい。第Ⅸ因子の濃度はkg体重当り約10単位の与えられた投与量に対応する範囲内にあるのが好ましい。第Ⅶa因子は第Ⅸ因子以外の血液凝固因子を伴わない方が好ましい。

ヒトの精製第Ⅶa因子はブローズ(Browse)及びマジェールズ(Majerus)、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー(J. Biol. Chem) 255(4): 1242-1247、1980年及びヘドナー(Hedner)及びキシエール(Kisiel)、ジャーナル・オブ・クリニカル・インヴェスティゲーション(J. Clin. Invest.) 71: 1836-1841、1983年により説明される方法により作られるのが好ましい。これらの方法は検出可能量のその他の血液凝固因子なしに第Ⅶ因子を

単位、より好ましくは100～500単位の第Ⅶa因子の量で投与される。この組成物は約24時間の時間内に投与されるのが好ましい。

本発明の関連した面は精製した第Ⅶa因子を少なくとも25μg/ml含んでなる出血障害の治療に使用するのに適した新規組成物並びにここに説明される方法を開示するものである。

当業者には投与を容易にするために約25μg/ml～500μg/ml、より好ましくは25μg/ml～200μg/mlの第Ⅶa因子の濃度を利用するのが好ましいことが了解されるであろうが、しかし、相当により高い濃度も本発明の範囲内において使用することが可能である。上記濃度の使用は投与量当り1～5mlの便利な注入を許容する。

本発明のその他の面は以下の説明により明らかとなるであろう。

#### 発明を実施するための最良の態様

その最も広い面について、本発明は凝固因子欠陥或いは凝固因子阻害剤により引起されたものでない出血障害に悩む患者を治療するための方

もたらす。更に精製された第Ⅶ因子製剤は追加のゲル通過を最終精製工程として含むことにより得られる。第Ⅶ因子は次いで公知の手段例えば幾つかの異った血漿蛋白質例えば第Ⅹa、Ⅸa或いはⅩa因子などにより活性化された第Ⅶa因子に転換される。或いは又ビヨルン等(Bjoern et al.) [リサーチ・ディスクロージャ(Research Disclosure) 269, 1986年9月564～565頁]に記載される如く第Ⅶ因子はそれをMono Q<sup>®</sup> (Pharmacia Fine Chemicals)などのイオン交換クロマトグラフィカラムを通すことにより活性化される。当業者は本発明に使用するのに適した適当な第Ⅶa因子がDNA組換え技術例えば第Ⅶ因子をコード化するcDNA或いは遺伝子[ハーゲン等(Hagen et al.)、プロシーディングス・オブ・ナショナル・アカデミック・サイエンス(Proc. Natl. Acad. Sci.), USA 83: 2412-2416, 1986]を適当なベクター内に挿入し、このベクターで適当な細胞系統を形質転換し、及び形質転換された細胞を適当な媒

体中において増殖させて表現された生成物を単離し、第Ⅶ<sup>a</sup>因子に活性化することにより製造されることも了解されるであろう。DNA組換え技術により製造された第Ⅶ<sup>a</sup>因子は真正の第Ⅶ<sup>a</sup>因子であっても或いは実質的に真正の第Ⅶ<sup>a</sup>因子と同一の血液凝固の生物学的活性を有する限り多少変性された第Ⅶ<sup>a</sup>因子であってもよい。その様な変性された第Ⅶ<sup>a</sup>因子は公知の手段例えば部位特異的突然変異生成により天然遺伝子中のアミノ酸コドンを変更するか或いはアミノ酸コドンの幾つかを除去することにより第Ⅶ因子をコード化するDNA配列を変成することにより調製される。

ここに説明される方法の実践は精製第Ⅶ因子が如何にして誘導されるかの如何に拘らずなされ、従って本発明はここで使用するのに適した任意の第Ⅶ<sup>a</sup>因子製剤の使用を含むものであることは明らかである。

本発明に従えば、第Ⅶ<sup>a</sup>因子は実質的に循環血小板を有しない患者における出血を阻止することが示される。簡単に述べると精製第Ⅶ<sup>a</sup>因子が抗

任意の出血状況例えば胃腸或いは鼻-口腔出血或いは外科手術においてここに説明される実質的に同一濃度において第Ⅶ<sup>a</sup>因子を使用して局所的止血を誘発することも有益である。これらの状況において第Ⅶ<sup>a</sup>因子は局所的或いは静脈内に適用される。

第Ⅶ<sup>a</sup>因子は静脈内注射により2~4回/24時間繰返されなければならない投与量である約2~5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ に対応するkg体重当り約100~1000単位、好ましくは約100~500単位の量で投与される。

ここで用いられる「1単位」とは約0.5  $\mu\text{g}$ 蛋白質に対応する1mlの正常の血漿中に存在する第Ⅶ因子の量と定義される。活性化後50単位は約1  $\mu\text{g}$ の蛋白質に相当する。

ここで用いられる「止血的效果」或いは「量」とは純粋第Ⅶ<sup>a</sup>因子のkg体重当り約100~1000単位の投与後15分以内における出血の実質的停止と定義される。

本発明のもう一つの面は好ましくは精製された

-血小板血清により血小板減少されたウサギ中に注射されたところ、実験は微量の精製ヒト第Ⅶ<sup>a</sup>因子が血小板減少動物における出血を有効に阻止することを示した。第Ⅶ<sup>a</sup>因子はこの様に一次的止血をバイパスする能力があり、血小板及び初期凝固相の参加なしに局所的止血を引き起こす。第Ⅶ<sup>a</sup>因子は又血小板減少に悩むヒトの患者における局所的止血を誘発する能力があることも示される。

多量の細胞破壊を伴う消耗組織損傷に悩む患者は崩壊細胞からの各種酵素の放出の結果としての複雑な止血障害を発生することがある。その様な酵素は凝固及び繊維素溶解系の両者に影響を及ぼし、一方の系或いはその他に含まれる幾つかの因子の劣化に導く。第Ⅶ<sup>a</sup>因子の凝固系の後者の相を活性化することによる止血栓子を生成する能力によりこれらの患者に第Ⅶ<sup>a</sup>因子を使用することもある有益である。この点に関する第Ⅶ<sup>a</sup>因子を用いる治療は静脈内注射或いは局所適用により行われ、抗-繊維素溶解治療と組合わされてもよい。更に、

形態の第Ⅶ<sup>a</sup>因子が適当なアジュバント或いは適当な担体又は希釈剤と混合される出血障害の治療のための薬学的組成物の製造方法を提供するものである。適当な生理学的に許容可能な担体或いは希釈剤としては殺菌水及び塩水が挙げられる。これに関して適当なアジュバントとしてはカルシウム、アルブミン類、或いはその他の精製第Ⅶ<sup>a</sup>因子を安定化するための不活性蛋白質が挙げられる。その他生理学的に許容可能なアジュバントは非還元性糖類、ポリアルコール類(例えばソルビール或いはグリセロール)、低分子量デキストリンなどの多糖類、アミノ酸類及び酸化防止剤(重亜硫酸塩及びアスコルビン酸塩など)である。これらのアジュバントは一般的に0.1~3 w/v%の濃度で存在する。この薬学的組成物は又例えばアプロチニンなどのプロテアーゼ阻害剤を含んでもよい。特に好ましい実施態様においては、カルシウムがもう一つの選ばれたアジュバントとの組合せにより薬学的組成物中に用いられる。カルシウムの量は5~50 mMが好ましく、より好ましく

は10~20 mM である。

以下の実施例は本発明を例示するために提供されるものであり、本発明を限定するものではない。

#### 〔実施例〕

##### 実施例1

ウサギをブッシュ等(Busch et al.)(Acta, Chir. Scand., 140:255, 1974年)の方法により調製されたウサギ血小板に対するヒツジ抗体を投与することにより血小板減少症にさせた。ウサギの腸間膜微細血管における止血栓子形成をベルクビスト及びアルホルス(Bergqvist and Arfors)の方法(Thromb. Diathes. Haemorrh., 30:586, 1973年)により研究した。各観察時に対し、3本の小動脈及び3本の小静脈(直径20~40  $\mu$ m)を横切開し、止血栓子形成の時間を測定し、及び再出血の頻度を記録した。一次止血栓子形成に必要な時間を「横切開と最初の出血阻止間の間隔」と定義した。これ及び全ての再出血時間の総和を「全止血栓子

260秒)。この短縮はしかしながら一時的なものであった(第VII $\alpha$ 因子投与後30分後の平均219秒であった)。THT-Vは同様なパターンを示し、第VII $\alpha$ 因子投与後10分後に短縮を示した(抗体投与後の平均698秒及び第VII $\alpha$ 因子投与後10分後499秒)。この僅かな短縮も一時的なものであり、第VII $\alpha$ 因子注射後30分後にはTHT-Vは平均672秒を示した。

もう一つの5匹の血小板減少症のウサギ群に次いで2倍量の第VII $\alpha$ 因子(kg体重当り100単位)を与えたところ、第VII $\alpha$ 因子を与えた後10分後にTHT-Aは抗体投与後平均256秒から第VII $\alpha$ 因子投与後10分後に平均89秒の顕著な短縮を示した。この短縮は観察時間中継続した。THT-Vは第VII $\alpha$ 因子の注射後著しく短縮した(抗体投与後平均591秒から平均390秒)。30分後にTHT-Vの正常化が起こり(平均255秒)及び60分後にも同一のものが観察された(平均299秒)。

5匹の非-血小板減少症ウサギにはTHTに對

形成時間」(THT)と称した。ウサギにおける血小板数は抗血小板血清が投与された後15~60分で最少に減少し、観察時間中低くとどまった。対照動物においては $263 \times 10^9/\ell$ (平均値)から $10 \times 10^9/\ell$ (平均値)の減少が生じた。血小板抗体が投与される前には小動脈中のTHT(THT-A)は平均54秒を示した。抗体投与後15分後並びに60分後においてTHT-Aの3倍の延長を越える179秒が観察された。小静脈中のTHT(THT-V)は抗体投与前には202~394秒の間で変化した(平均274秒)。THT-Aの延長と並行して抗体投与後15分後にTHT-Vの延長(平均768秒)が観察され、観察時間の間中比較的一定にとどまった。

対照動物と同様にして3匹のウサギを血小板減少症にし、次いでヒト第VII $\alpha$ 因子(kg体重当り50単位)を投与した(抗体投与後30分後)。第VII $\alpha$ 因子が注射されてから10分後にTHT-A値は各ウサギにおいて実質的な短縮を示した(平均114秒;抗体投与後第VII $\alpha$ 因子投与前の平均

して何等の効果も見られなかった。第VII $\alpha$ 因子の代りに第VII因子を与えた場合にはTHTに対する何等の効果も見られなかった。

結果を次表にまとめて示す。

以下余白

表

APS投与前後引続き第Ⅴa因子を投与(100  $\mu$ /kg 体重)した場合の5匹のウサギにおけるTHT-A及びTHT-V。各チェックポイントにおける3つの損切開の平均が与えられる。括弧内の数値は第Ⅴa因子を50  $\mu$ /kg 体重の投与量で与えた3匹の血小板減少症ウサギにおいて得られた値である。

ウサギ 番号	投与前	APS投与後 15分	APS投与後30分 第Ⅴa(Ⅴ)因子投与後10分後 (100 $\mu$ /kg体重)	APS投与後60分 第Ⅴa(Ⅴ)因子投与後30分後 (100 $\mu$ /kg体重)	APS投与後90分 第Ⅴa(Ⅴ)因子投与後60分後 (100 $\mu$ /kg体重)
THT-A 1	42(77)	131(225)	89(288)	111(144)	-
(秒) 2	63(57)	483(222)	104(256)	153(87)	86
3	90(75)	206(763)	81(717)	119(631)	210
4	61	179	77	60	72
5	53	279	95	95	110
平均	65(70)	256(403)	89(420)	106(364)	102
THT-V 1	277(176)	719(580)	485(900)	253(411)	-
2	164(321)	463(768)	357(812)	187(657)	236
3	254(230)	584(899)	274(900)	288(839)	243
4	213	599	551	155	229
5	376	590	285	391	487
平均	257(242)	591(749)	390(871)	255(636)	299
血小板数 $\times 10^9/\ell$					
平均	222(193)	2(6)	2(8)	6(25)	10
範囲	243-214 (93-283)	0-8(2-9)	1-2(2-12)	5-10(18-23)	7-12

(23)

本実験は生体内における凝固過程の開始における第Ⅴa因子の重要な役割を示す。対照的に第Ⅴa因子はこの過程においては殆んど効果を有さない。更に、第Ⅴa因子は血小板の不存在下においても凝固過程を開始することができた。従って、通常血小板により傷の部位において提供されるリン脂質は組織因子も与える損傷した内皮細胞から利用可能となる。

#### 実施例 2

純粋第Ⅴa因子を用いた血小板減少症を有する二人の患者の治療

激しい血小板減少(血小板数 $<10 \times 10^9/\ell$ )の合併症を有する血液学的障害を有する二人の患者(それぞれバルデンストレーンマクログロブリン血症及び慢性リンパ白血症)にヘドナー及びキシール(Hedner and Kisiel)(上記)により説明された方法に主として従ってヒト血漿から精製されたⅤa因子を与えた。

最初の患者は夥しい鼻の出血に伴って治療された。デューク(Duke)による出血時間(BT)は

激しい血小板減少症の結果として第Ⅴa因子の注射前は15分より長かった。100  $\mu$ /kg体重(2  $\mu$ g/kg体重)の投与量を静脈内投与し、注射完了後15分後にはデュークBTは正常化した(4分、正常範囲: $<5$ 分)。血小板数は観察時間を通じ同一にとどまった( $10 \times 10^9/\ell$ )。鼻の出血は迅速に停止し、生成した血餅は如何なる出血も伴わずに除去することができた。後に僅かな再出血が開始したが、自然に停止した。脈、体温、或いは血圧に対する何等の影響も見られなかった。血漿中における第Ⅴa因子の濃度は0.66  $\mu$ /ml $\sim$ 2.07  $\mu$ /mlに上昇したが、注射後8時間後に再び0.60となった。第Ⅴa因子の血漿濃度(注射前1.12  $\mu$ /ml及び注射後1.12  $\mu$ /ml)に対する何等の影響も見られず、8時間の観察時間同一濃度にとどまった。循環血液中に何等のフィブリン/フィブリンノーゲン劣化生成物は現われず、エタノールゲル化試験はずっと陰性であった。更にATⅢ或いは $\alpha_2$ APにおける何等の変化も見られなかった。

2番目の患者も又第Ⅶa因子の注射前に $10 \times 10^9/\text{g}$ より少ない血小板数及び15分を超えるデュークBTを有する。この患者は耳へのデューク切込みから手による圧縮及び局所的トロンビンの適用により止められなければならなかった夥しい出血をした。純粋な形の第Ⅶa因子を約 $100 \mu/\text{kg}$ 体重( $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)の投与量で静脈内投与し、デュークBTを注射完了後15分後に繰返した。デュークBTは10分となり、切込みの部位に目に見える血餅の形成が観察された。血小板数の変化は記録されず、脈拍、血圧或いは体温に対する何等の影響も生じなかった。第Ⅶ因子の血漿濃度は $0.57 \mu/\text{ml} \sim 2.17 \mu/\text{ml}$ に上昇した。第Ⅹ因子濃度における変化も見られず(注射前 $0.73 \mu/\text{ml}$ 及び注射後 $0.81 \mu/\text{ml}$ )、又ATⅢ或いは $\alpha_2\text{AP}$ における何等の変化も見られなかった。

要約すると、静脈内注射された精製第Ⅶa因子は激しい血小板減少を有する患者における延長されたBTを短縮した。並行して、第Ⅶ因子の血漿

濃度の増大が観察された。凝固機構に及ぼす何等の一般的効果の徴候も観察されなかった。

以上の説明から、本発明の特別の実施態様が例示の目的で説明されたが、本発明の趣旨及び範囲から離れることなく各種修正が行われてよい。従って、本発明は特許請求の範囲以外から何等の制限を受けるものではない。

## 特許出願人

ノボ インダストリ アクティーゼルスカプ

## 特許出願代理人

弁理士 青 木 朗  
 弁理士 西 館 和 之  
 弁理士 石 田 敬  
 弁理士 山 口 昭 之  
 弁理士 西 山 雅 也

## 手 続 補 正 書 (方式)

昭和62年3月20日

特許庁長官 黒 田 明 雄 殿

## 1. 事件の表示

昭和61年特許願第278887号

## 2. 発明の名称

出血障害の治療のための第Ⅶa因子を含有する  
 治療組成物

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名称 ノボ インダストリ アクティーゼルスカプ

## 4. 代 理 人

住所 〒105 東京都港区虎ノ門一丁目8番10号

静光虎ノ門ビル 電話 504-0721

氏名 弁理士(8579) 青 木 朗

(外4名)

## 5. 補正命令の日付

昭和62年2月24日(発送日)

特許庁

62.3.20

## 6. 補正の対象

- (1) 願書の「出願人の代表者」の欄  
 (2) 委任状  
 (3) 明細書

## 7. 補正の内容

- (1) (2) 別紙の通り  
 (3) 明細書の浄書(内容に変更なし)

## 8. 添附書類の目録

- (1) 訂正願書 1通  
 (2) 委任状及び訳文 各1通  
 (3) 浄書明細書 1通



【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成6年(1994)6月21日

【公開番号】特開昭62-195335

【公開日】昭和62年(1987)8月28日

【年通号数】公開特許公報62-1954

【出願番号】特願昭61-278887

【国際特許分類第5版】

A61K 37/02 ACA 8314-4C

手 続 補 正 書

平成5年10月21日

特許庁長官 麻 生 渡 殿

1. 事件の表示

昭和61年特許願第278887号

2. 発明の名称

出血障害の治療のための第Ⅶa因子を含有する  
治療組成物



3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名称 ノボ ノルディスク アクティーゼルスカプ

4. 代 理 人

住所 〒105 東京都港区虎ノ門一丁目8番10号

静光虎ノ門ビル 電話 3504-0721

氏名 弁理士(6579) 青 木 朗

(外4名)

5. 補正の対象

明細書の「特許請求の範囲」の欄

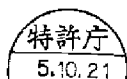
6. 補正の内容

特許請求の範囲を別紙の通り補正する。

7. 添付書類の目録

特許請求の範囲

1通



## 2. 特許請求の範囲

1. 有効な止血量の第Ⅶa因子を含んでなる、凝固因子欠陥或いは凝固因子阻害剤により引起されたものではない出血障害に悩む患者の治療用組成物。
2. 血小板減少或いは血小板障害に悩む患者の治療用の特許請求の範囲第1項記載の組成物。
3. ヴォン・ヴィレブランド病に悩む患者の治療用の特許請求の範囲第1項記載の組成物。
4. 組織損傷に伴う出血に悩む患者の治療用の特許請求の範囲第1項記載の組成物。
5. 精製された第Ⅶa因子を少なくとも25 $\mu$ g/mlの濃度で含んでなる特許請求の範囲第1項記載の組成物。
6. 該止血量が約100単位～1000単位の第Ⅶa因子/kg体重を含んでなる特許請求の範囲第1項記載の組成物。
7. 該止血量が約100単位～500単位の第Ⅶa因子/kg体重を含んでなる特許請求の範囲第1項記載の組成物。

8. 該組成物が更に第Ⅸ因子を含む特許請求の範囲第1項記載の組成物。

9. 生理学的に許容可能な担体或いは稀釈剤を含む特許請求の範囲第1項記載の組成物。

10. アジュバントを含む特許請求の範囲第1項記載の組成物。

11. 該アジュバントがカルシウムである特許請求の範囲第10項記載の組成物。

12. 該アジュバントがアルブミン、非還元性糖類、ポリアルコール類、アミノ酸類、多糖類及び酸化防止剤よりなる群から選ばれた特許請求の範囲第10項記載の組成物。

13. カルシウムとアルブミン、非還元性糖類、ポリアルコール類、アミノ酸類、多糖類及び酸化防止剤よりなる群から選ばれた1以上のアジュバントの組合わせを含む特許請求の範囲第1項記載の組成物。